EXTRAIT DU BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE CRACOVIE
CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES. SÉRIE *B*: SCIENCES NATURELLES
NOVEMBRE 1910

Experimentelle Untersuchungen über vitale Färbung der Mikrolepidopterenraupen

von

L. Sitowski





CRACOVIE
IMPRIMERIE DE L'UNIVERSITÉ
1910.

L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE CRACOVIE A ÉTÉ FONDÉE EN 1873 PAR

S. M. L'EMPEREUR FRANÇOIS JOSEPH I.

PROTECTEUR DE L'ACADÉMIE:

S. A. I. L'ARCHIDUC FRANÇOIS FERDINAND D'AUTRICHE-ESTE.

VICE-PROTECTEUR: *Vacat.*

PRÉSIDENT: S. E. M. LE COMTE STANISLAS TARNOWSKI.

SECRÉTAIRE GÉNÉRAL: M. BOLESLAS ULANOWSKI.

EXTRAIT DES STATUTS DE L'ACADÉMIE:

(§ 2). L'Académie est placée sous l'auguste patronage de Sa Majesté Impériale Royale Apostolique. Le Protecteur et le Vice-Protecteur sont nommés par S. M. l'Empereur.

(§ 4). L'Académie est divisée en trois classes:

a) Classe de Philologie,

b) Classe d'Histoire et de Philosophie,

c) Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles.

(§ 12). La langue officielle de l'Académie est la langue polonaise.

Depuis 1885, l'Académie publie le «Bulletin International» qui paraît tous les mois, sauf en août et septembre. Le Bulletin publié par les Classes de Philologie, d'Histoire et de Philosophie réunies, est consacré aux travaux de ces Classes. Le Bulletin publié par la Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles paraît en deux séries. La première est consacrée aux travaux sur les Mathématiques, l'Astronomie, la Physique, la Chimie, la Minéralogie, la Géologie etc. La seconde série contient les travaux se rapportant aux Sciences Biologiques

Publié par l'Académie
sous la direction de M. **Ladislas Kulczyński**,
Membre délégué de la Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles.

5 grudnia 1910.

Nakładem Akademii Umiejętności.

Kraków, 1910 — Drukarnia Uniwersytetu Jagiellońskiego pod zarządem Józefa Filipowskiego.

Kochanemu koledze Władysławowi Polińskiemu
autor

EXTRAIT DU BULLETIN DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE CRACOVIE
CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES. SÉRIE *B*: SCIENCES NATURELLES
NOVEMBRE 1910

Experimentelle Untersuchungen über vitale Färbung der Mikrolepidopterenraupen

von

L. Sitowski







CRACOVIE
IMPRIMERIE DE L'UNIVERSITÉ
1910.

Extrait du Bulletin de l'Académie des Sciences de Cracovie.
Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles. Série *B*: Sciences Naturelles.

Doświadczenia nad barwieniem żywych gąsienic drobnych motyli. — Experimentelle Untersuchungen über vitale Färbung der Mikrolepidopterenraupen.

Mémoire

de M. **LUDWIK SITOWSKI,**

présenté par M. H. Hoyer m. c. dans la séance du 7 Novembre 1910.

(Planche XXXIII).

Einleitung.

Es ist bekannt, daß die Färbung der Insekten im allgemeinen und der Schmetterlingsraupen im besonderen durch die Art der Nahrung beeinflußt und durch Darreichung bestimmter Nahrungsstoffe bis zu einem gewissen Grade willkürlich geändert werden kann. Bereits von verschiedenen Forschern, wie von Cuénot, Kamensky, Kowalewski, Kruckenberg, Poulton, Standfuss und anderen sind derartige Untersuchungen angestellt worden, speziell an Schmetterlingen. So hat Poulton (5) nachgewiesen, daß die Raupen ihre grüne Farbe dem Chlorophyll und die gelbe dem Xanthophyll verdanken und daß infolgedessen zuweilen eine vollkommene Übereinstimmung zwischen der Farbe der Raupe und derjenigen der Futterpflanze zustandekommt; auf diese Weise entsteht z. T. die Schutzfärbung der Raupen.

Auch die Ernährung der Schmetterlingsraupen mit künstlichen Farbstoffen übt auf die Färbung ihres Körpers einen bedeutenden Einfluß aus, und es schien eine genauere Untersuchung dieses Einflusses von einigem Interesse zu sein. Zu diesem Zwecke habe ich eine Reihe von Fütterungsversuchen mit verschiedenen Fettfarbstoffen ausgeführt, wobei ich auch genau prüfte, in welcher Zeit und auf welche Weise die Farbstoffe aufgenommen und wo sie abgelagert werden; dabei kamen einige andere biologische Tatsachen zur Beobachtung, welche im folgenden mitgeteilt werden sollen.

Das Material und die Färbungsmethoden.

Meine früheren Untersuchungen in dieser Richtung stellte ich hauptsächlich mit der Art *Tineola biselliella* an (vgl. Lit.). Den Gegenstand der vorliegenden Mitteilung bildete die Untersuchung der Raupen von *Tinea corticella* Curt., *T. pellionella* Z., *Tineola biselliella* Hummel, *Ephestia elutella* Hb., und *Endrosis lacteella* Schiff. Die erstgenannten leben im Pilzgewebe *(Boletus edulis)*, diejenigen von *T. pellionella* und *T. biselliella* nähren sich von Pelzhaaren aber auch von Wollstoffen, *Ephestia elutella* lebt als Raupe in faulendem Holze; die Nahrung der Raupe von *Endrosis lacteella* bildet Mehl.

Zum Experimentieren eignen sich die erwähnten Arten ganz gut, weil ihre Kultur wegen der leichten Ernährung mit fremden Substanzen mit keinen Schwierigkeiten verbunden ist. Von allen diesen Arten erwies sich jedoch *E. lacteella* wegen der Gefräßigkeit ihrer Raupe als die geeignetste; ich konnte derselben den Farbstoff mit Mehl oder mit Ceresin gemischt reichen. Den übrigen Arten wurde mit Farbstofflösung getränkte Nahrung verabreicht, indem der Farbstoff in Alkohol oder Chloroform gelöst, die Nahrung (der Wollstoff, das Pilzgewebe u. s. w.) mit der Lösung getränkt und nachher getrocknet wurde. Die Raupen hielt ich meist einzeln in kleinen Glasgefäßen mit Glasdeckeln. Nachdem ich festgestellt hatte, daß alle obigen Arten auf die Farbstoffe, mit denen sie gefüttert wurden, fast in gleicher Weise reagieren, beschränkte ich mich bei meinen Untersuchungen meist auf *E. lacteella*.

Meine früheren Beobachtungen über die Färbung des Fettkörpers mit Sudanrot (10) (nämlich Sudan III) ergänzte ich durch Experimente mit verschiedenen anderen Abarten dieses Farbstoffes, indem ich die Raupen mit Sudan I, II, III, IV, G, 2 G, R und mit Sudanbraun fütterte. Ich verwendete diese Farbstoffe in Lösung oder bei *Endrosis lacteella* mit Mehl gemischt. Die so gefütterten Raupen nahmen bald die Farbe des entsprechenden Sudans an. Um die Wirkung ähnlicher Farbstoffe zu konstatieren, fütterte ich die Raupen auch mit Scharlach (R), einem dem Sudan verwandten Farbstoff aus der Gruppe der Tetrazofarbstoffe,, welcher sich vortrefflich zur Färbung lebender Raupen eignet. Die Raupen, die Puppen und der Leib der Schmetterlinge sowie auch ihre Eier zeigten eine intensive Rotfärbung. Mit gutem Erfolge wurden auch die Azofarbstoffe benützt; so fütterte ich z. B. die Raupen direkt mit Azobenzol, Azobenzolceracin, und Dia-

midobenzol, einem basischen Farbstoff, welcher gewöhnlich Chrysoidin genannt wird. Der Körper der Raupen zeigte bald die entsprechende Färbung (Fig. 1). Von anderen basischen Farbstoffen verwendete ich als Beimischung zum Nährstoffe das Chinophthalonpulver (dieser im Handel als Chinolingelbspritl bekannte Farbstoff ist schwach basisch), wobei sich die Raupen gelb färbten, ferner den basischen Farbstoff Brillantrosa (Phthalein des Diäthylmetaaminophenols), mit Ceresin im Verhältnis von 0·07% gemischt, und Brillantpurpur, mit Ceresin im Verhältnis von 1%. Einer der besten basischen Farbstoffe, welcher im Körper der Raupen sehr schnell sichtbar wird, ist Brillantblau (Chlorhydrat des Triphenylrosalinins); ich verwendete ihn mit Ceresin im Verhältnis von 0·2%. Mit demselben gefütterte Raupen wurden blau. Eine violette Färbung des Raupenkörpers verursachte der basische Farbstoff Violettfettfarbe, ein Gemenge von Hexamethylpararosalinin mit Pentamethyl- und Tetramethylpararosalinin, welches ich mit Ceresin im Verhältnis von 0·2% mischte. Eine Grünfärbung des Raupenkörpers (Fig. 5) erfolgte nach Fütterung mit Tetrathyldiaminotriphenyloadchinol (dem Chlorzinkdoppelsalz oder Sulfat), welcher Farbstoff als Brillantgrün bekannt ist; er wurde mit Ceresin im Verhältnis von 1% gemischt. Die Gelbfettfarbe, Zitronengelbfettfarbe und Orangenfettfarbe mit Ceresin im Verhältnis von 0·2%, bezw. 0·5% färbten den Raupenkörper gelb.

Ich will hier bemerken, daß sich nicht durch alle zur Fütterung der Raupen verwendeten Fettfarbstoffe eine Färbung ihres Körpers erzielen ließ; Kokcelin, Krocein, Walkgelb, Säuregelb färbten den Raupenkörper gar nicht, obwohl der ganze Darmkanal mit entsprechendem farbigem Nährstoffe ausgefüllt war. Zu solchen Farbstoffen gehört auch Indophenol, ein zur Färbung des Fettes sonst brauchbarer basischer Farbstoff. Trotz Aufnahme der mit Indophenollösung getränkten und dann getrockneten Nahrung konnte im Körper der Raupen keine Färbung konstatiert werden. Dennoch scheint das Indophenol, wie Ehrlich (1) wenigstens für Säugetiere behauptet, im Darm — allerdings in sehr beschränktem Maße — resorbiert zu werden, da es in den Malpighischen Gefäßen wieder ausgeschieden wurde. Ebenso bewirkte das Nigrosin keine Färbung.

Die Resorptionszeit der Farbstoffe.

Die Zeit, welche vom Zeitpunkte der Fütterung bis zur Färbung des Raupenkörpers verstreicht, ist bei verschiedenen Arten verschieden. Zweifellos ist dies abhängig von der Gefräßigkeit der gegebenen Art und von der Natur und der Konzentration des Farbstoffes im Nährstoffe. So habe ich bei den Raupen von *E. lacteella* Schiff., welche vor der Fütterung 24 Stunden ausgehungert worden waren, beobachtet, daß der Körper sich schon nach ungefähr drei Stunden intensiv färbte. Nach Aufnahme des blauen (Brillantblau), mit Ceresin im Verhältnis von 0·2% gemischten Farbstoffes von der Raupe konnte man bei der raschen Bewegung des Darminhalts bemerken, wie dieser eine blaue Spur hinterließ, nach etwa drei Viertelstunden, als der Farbstoff in der Gegend der *pedes coronati*, also im Mitteldarm angelangt war, konnte man schon eine blaßblaue Färbung des vorderen Körperteils beobachten; ganz deutlich ließ sich die immer intensiver werdende Färbung des Körpers verfolgen in dem Maße, wie sich der gefärbte Nährstoff den Endsegmenten des Hinterleibes näherte, so daß nach drei Stunden der ganze Körper blau wurde, wie wir es in Figur 3 dargestellt sehen. In gleicher Zeit erfolgt die Färbung des Raupenkörpers mit Violettfettfarbe, welche sich ganz analog verhält (Fig. 4). Die Färbung mit Scharlach erfolgt ebenfalls schnell. Auch die Raupen der Gattungen *Tinea, Tineola, Ephestia* und *Endrosis* verhalten sich nach Aufnahme des damit getränkten Nährstoffes ganz ähnlich und nehmen innerhalb einiger Stunden rote Färbung an (Fig. 2).

Andere Farbstoffe hingegen werden nicht so schnell im Körper der Raupen sichtbar, so kommen z. B. das Sudan und die Azofarbstoffe erst nach zwei bis drei Tagen im Raupenkörper zum Vorschein, besonders bei der mit gefärbtem Pelzwerk gefütterten *Tinea pellionella* und der mit tingiertem Pilzgewebe gefütterten *Tinea corticella.*

Die Färbung des Raupenkörpers.

Um zu erfahren, welche Teile des Raupenkörpers am intensivsten gefärbt werden, untersuchte ich denselben unter der Binokularlupe, nachdem das Chitin von der Bauchseite angeschnitten und die Muskeln abpräpariert worden waren. Am intensivsten wird der Fettkörper gefärbt, dagegen konnte ich eine Färbung des Chitins,

der Muskeln und des Nervensystems bei keinem der verwendeten Farbstoffe konstatieren. Eine große Quantität des Farbstoffes fand sich, wie ich schon erwähnt habe, im Darm und im Lumen der Malpighischen Gefäße. Bei älteren, durch längere Zeit mit gefärbten Nährstoffen z. B. mit Brillantblau und Scharlach gefütterten Raupen fand ich Spuren einer blauen und roten Farbe auch in Eierstöcken. Die einzelnen gefärbten Organe wurden in physiologischer Kochsalzlösung unter dem Mikroskope untersucht. Nach Entleerung des Darminhaltes war eine blaßblaue, bezw. blaßrote Färbung der Darmwände erkennbar infolge der Färbung der Epithelzellen des Mitteldarmes. Die intensivste Farbe zeigte, wie gesagt, der Fettkörper; die der Nuance des Farbstoffes entsprechende Färbung der ganzen Raupe beruht eben auf der Färbung des Fettkörpers, welcher durch den Chitinpanzer sichtbar ist. In den Fettgewebezellen sind die Fettropfen von den entsprechenden, in Fetten leicht löslichen Farbstoffen gefärbt. Überhaupt ist der Farbstoff in denjenigen Teilen des Organismus der Raupe konzentriert, in welchen sich Fett befindet. Brillantblau und die violette Fettfarbe färben auch die Hämolymphe, so daß die beim Anstechen des Dorsalgefäßes heraustretende Blutflüssigkeit deutlich blau, violett oder scharlachrot gefärbt erscheint. Der zu dem Blutsinus gelangte Farbstoff verbleibt hier im Kontakt mit dem Fettgewebe und färbt es entsprechend. Die außerordentlich schnelle Färbung des Fettkörpers mit manchen Farbstoffen weist darauf hin, daß der Farbstoff mit dem Blutstrome zum Fettgewebe gelangt.

Zu interessanten Erscheinungen gehört auch die Ablagerung der Farbstoffe in den Spinndrüsen, nämlich bei *Endrosis lacteella*, deren Raupe nach längerer Fütterung gefärbte Spinnfäden ausschied. Außerordentlich intensiv wirkten dabei Violettfettfarbe, Brillantblau und Chrysoidin.

Eine Färbung der Spinnfäden der Schmetterlinge bei Ernährung mit farbigen Nährstoffen haben Blanc, Villon, Schmujdsinowitsch, Kamensky u. a nachgewiesen. Villon (4) fütterte die Raupen von *Bombyx mori* mit Maulbeerblättern, die mit Indigo, Maren und Cochenille getränkt waren; die so behandelten Raupen schieden farbige Spinnfäden aus. Schmujdsinowitsch (3) wies im Organismus der Raupen Karmin nach, und Kamensky (7), der die Raupen von *Bombyx mori* mit verschiedenen färbenden Stoffen fütterte (die Blätter waren mit diesen Substanzen imprägniert),

eine Färbung der Cocons mit Pikrinsäure, welcher Farbstoff auch im Innern der Raupen gefunden wurde. Es stellte sich dabei heraus, daß die Raupen die Pikrinsäure in den Malpighischen Gefäßen ausschieden. — Das Auspräparieren der Spinndrüsen gelang mir zwar wegen der Kleinheit der behandelten Raupen nicht, doch ließ sich die Färbung der Spinnfäden und des Gespinstes bei der Verpuppung leicht feststellen. Der Umstand, daß die von mir verwendeten Farbstoffe sich in chemischer Beziehung bis zum gewissen Grade analog verhalten. wie der natürliche gelbe Farbstoff der rohen Seide, dürfte uns die Fähigkeit der Färbung der Spinnfäden leicht erklären. Die erwähnten Farbstoffe sind in Alkohol, Äther und Chloroform leicht löslich. und dieselbe Lösungsreaktion charakterisiert auch den gelben, natürlichen Farbstoff der Seide; den letzteren hat Dubois (6) in Kristallform erhalten und seine chemischen Eigenschaften näher untersucht.

Nach Fütterung mit zwei verschiedenen Farbstoffen nacheinander, z. B. mit blauem und mit rotem, ließ sich in dem Raupenkörper die betreffende Mischfarbe, grün oder violett, beobachten. So nahm eine mit Chrysoidin gelb gefärbte Raupe *(Endrosis lacteella)*, wenn sie mit einem blauen (mit Brillantblau gefärbten) Nährstoff gefüttert wurde, in kurzer Zeit, und zwar schon nach einigen Stunden eine grüne Farbe an. Ähnliches fand ich wiederholt beim Übertragen der mit Brillantblau gefärbten Raupen auf Sudan IV; nach Aufnahme des roten Farbstoffes, wurden die Raupen violett. Diese Experimente zeigen, daß die Farbstoffe mit dem Blute außerordentlich schnell dem Fettgewebe zugeführt werden und dort den gleichen Effekt hervorrufen, wie die Mischung der betreffenden Farben außerhalb des Körpers

Die Raupen sind auch imstande, manche zusammengesetzte Farbstoffe in ihrem Organismus zu trennen. Das geschieht, wenn man Indophenol mit einem anderen das Fett färbenden Farbstoffe, z. B. Scharlach mischt. Die in substantia miteinander gemischten Farbstoffe, welche eine violette Farbe ergaben, wurden in Chloroform gelöst und die mit der Lösung getränkte und gut getrocknete Wolle Raupen von *T. bisellieila* und *pellionella* verabreicht. Schon nach Verlauf von 24 Stunden ließ sich eine rote, durch Scharlach verursachte Färbung des Raupenkörpers wahrnehmen, dagegen das Indophenol leicht im Lumen der Malpighischen Gefäße nachweisen. Eine ähnliche Erscheinung konstatierte auch Staniewicz bei den

mit einer Mischung von Öl, Sudan III und Indophenol gefütterten Infusorien; das Fett färbte sich rot und die Vakuolen mit Indophenol violett. Der letztere Farbstoff wurde von den Vakuolen ausgeschieden.

Manche in den Darmkanal des Raupenkörpers eingeführten Farbstoffe treten in dem Fettkörper in veränderter Form auf. Zu solchen gehört z. B. die Braunfettfarbe (Triaminobenzolsalz), welche ich mit Ceresin im Verhältnisse von 0·25% verwendete. Die mit diesem Farbstoffe gefütterten Raupen färbten sich gelb, ähnlich wie bei Verfütterung von reinem Azobenzol; das Lumen der Malpighischen Gefäße nahm eine Lachsfarbe an, welche in gewissen Teilen in eine violette überging.

Die Analyse der künstlichen Farbstoffe im Organismus der Raupen und die Veränderungen derselben zeigen eine gewisse Analogie mit der Verarbeitung des Chlorophylls. Die Untersuchungen der Gräfin von Linden[1]) beweisen, daß das Chlorophyll im Darm und Darmepithel der *Vanessa*-Raupen eine chemische Veränderung und Umwandlung erfährt, wobei sich ein roter Farbstoff bildet.

Zu den Farbstoffen, welche keine Färbung der Raupen verursachen und welche durch die Malpighischen Gefäße ausgeschieden werden, gehört ein violetter, im Handel als Tiefblau-B extra bekannter Farbstoff; er wurde mit Ceresin im Verhältniss von 1% verwendet. Eine Stunde nach Aufnahme desselben konnte er im Lumen der Malpighischen Gefäße nachgewiesen werden (vgl. Figur 8, wo ein Teil dieser Gefäße sichtbar ist). Die Ausscheidung von gewissen Substanzen durch die Malpighischen Gefäße der Schmetterlingsraupen ist wohl bekannt; Metalnikoff (12) beschrieb u. a. den Übergang des Farbstoffes Methylenblau in das Lumen der Malpighischen Gefäße bei Raupen von *Galleria mellonella*.

Biologische Beobachtungen.

Mit Hilfe der Farbstoffe hoffte ich über die Art der Resorption der Verdauungsprodukte einen gewissen Aufschluß zu erhalten. Namentlich erhoffte ich dies von den Fetten, von denen es bis jetzt noch unbekannt ist, in welcher Weise sie resorbiert werden. Alle Arten der Tineidenraupen nehmen sehr gern Fett auf, selbst die-

[1]) Zit. nach Biedermann (19).

jenigen, welche gewöhnlich von Stärke leben, wie *Endrosis lacteella*. Trotz meiner diesbezüglichen Bemühungen konnte ich jedoch experimentell die Frage, ob das Fett bei Tineiden als Emulsion resorbiert, oder verseift wird, nicht entscheiden. Meine Experimente überzeugten mich, daß der Farbstoff kein Index für die Art der Resorption des Fettes sein kann, weil er stets in den Fettkörper eindringt, unabhängig davon, in welcher Form er dargereicht wird, ob mit Fett, Mehl, Ceresin oder allein, ob die mit dem Farbstoffe gemischte Nahrung verdaut wird, oder unverdaut den Darmkanal passiert. Mit der Bestimmung der Form der Fettresorption beschäftigten sich viele Forscher. Biedermann (19) hat durch seine in vitro ausgeführten Versuche die große Ähnlichkeit zwischen der Sekretmasse im Mitteldarm des Mehlwurmes und dem Pankreassaft der Wirbeltiere hinsichtlich ihrer verdauenden Wirkungen nachgewiesen. Er stellte auch Fütterungsversuche mit Larven von *Tenebrio molitor* an, indem er sie mit einer Mischung von Öl und Alkanna oder Sudan III fütterte. Es zeigten sich dabei in den Epithelzellen des Darms keine gefärbten Öltröpfchen. Biedermann schließt, daß das Fett bei der Larve von *Tenebrio* synthetisch aus den Spaltungsprodukten, die durch Zerlegung des Fettes im Darm entstehen, erzeugt wird. Auch ich habe einige vergleichende Fütterungsversuche mit den Larven von *Tenebrio molitor* angestellt; ich fütterte sie mit Mehl, welchem Sudan, resp. Scharlach in Pulverform beigemischt war, oder mit Fettgewebe, welches mit Sudan oder Scharlach bestreut war. Stets wurde jedoch eine starke Färbung der Darmepithelzellen und des Fettkörpers wahrgenommen, und diese Färbung erhielt sich auch im Stadium der Puppe und der Imago [1]). Diese Resultate, welche, ohne die in vitro ausgeführten Versuche Biedermanns zu widerlegen, den Färbungsversuchen desselben widersprechen, lassen sich durch die Verschiedenheit der Untersuchungsmethode erklären. In meinen Experimenten bediente ich mich eines anderen Nährstoffes und einer sehr stark gefärbten Mischung, und ich erblicke darin den Grund, warum der Farbstoff in den Epithelzellen des Darmes und auch im Fettkörper sichtbar wurde. Ich verwendete zu diesen vergleichenden Versuchen auch die Lar-

[1]) Zu gleichen Resultaten gelangte vor mir Herr Heltmann, der in demselben Laboratorium gearbeitet hatte, und mit dessen Erlaubnis ich dieselben hier mitteile.

ven von Käfern, welche unter ähnlichen Verhältnissen, wie die Tineidenraupen leben, nämlich Larven der Gattung *Dermestes* und *Anthrenus*. Ich bemerkte, daß die Reaktion des Darmes bei diesen Larven identisch ist mit der Reaktion bei den Raupen von *Tineola biselliella,* dh. alkalisch und nur im Enddarm sauer. Die Tatsache, daß die Insekten verschiedener Ordnungen dieselbe Reaktion besitzen, weist daurauf hin, daß sie wahrscheinlich das Fett in ähnlicher Weise resorbieren. Es ist aber schwer zu entscheiden, ob die alkalische Reaktion des Darmes zur Verseifung in Glyzerin und Fettsäure dient und ob nachher das Fett synthetisch erzeugt wird. Vergleichen wir aber die Darmreaktion der Larve *Tenebrio molitor* mit derjenigen der Raupe von *Endrosis lacteella,* welche sich gleichfalls von Stärke nährt, so finden wir hier andere Verhältnisse. Die Darmreaktion von *Tenebrio* ist, wie Biedermann gezeigt hat, meistens sauer, während der Darm der *Lacteella*-Raupe auf seiner ganzen Länge alkalisch reagiert. Die nämlichen Teile des Darmes können also entgegengesetzt beschaffene Reaktionen aufweisen, obgleich die entsprechenden Insekten sogar in ganz ähnlichen Verhältnisen leben und sich von gleichen Stoffen ernähren.

Beachtenswert ist auch der Einfluß, welchen die Qualität des Nährstoffes auf die Zeit des Durchganges durch den Darm bei den Tineidenraupen ausübt. Die Stärke und das gefärbte Ceresin durcheilen, wie oben bemerkt wurde, den Darmkanal schnell, während die Wolle bei *T. biselliella,* besonders bei gut entwickelten Raupen, welche in kurzer Zeit die Metamorphose durchmachen sollen, sich langsamer bewegt. Die Zeit des Durchganges der Nahrung steht also im Zusammenhange mit der Qualität des Nährstoffes und der Gefräßigkeit mancher Raupen, welche viel Nahrung aufnehmen und wenig verdauen, wie dies auch besonders von phytophagen Raupen bekannt ist.

Mit Hilfe des Farbstoffes ließ sich feststellen, daß der Nährstoff im Mitteldarm resorbiert wird. Sobald nämlich der Farbstoff zu diesem Teile des Darmkanals gelangt, wird das Blut gefärbt, und dieses verteilt den Farbstoff im ganzen Körper.

Um zu erfahren, ob Tineidenraupen, wie *Tinea pellionella* und *Tineola biselliella,* welche im Pelzwerk und in Vogelfedern leben, sich von Keratin allein ernähren können, machte ich folgenden Versuch. Ich fütterte *Biselliella*-Raupen von verschiedener Größe mit sorgfältig gereinigter Wolle. Außer Keratin finden sich in der

Wolle Salze des Kaliums sowie auch organischer und anorganischer Säuren, ferner Fette und Eiweißstoffe. Um die Wolle von denselben zu befreien, wurde sie zunächst mit Alkohol und Schwefeläther (im Soxhletschen Extraktor) behandelt, dann mit heißem Wasser und verdünnter Salzsäure ausgewaschen, hauptsächlich um die in Alkohol und Äther nicht löslichen anorganischen Salze zu entfernen. Die Eiweißkörper wurden bei der Behandlung der Wolle mit verdünnter, warmer Natronlauge entfernt, in welcher sich sogar ein Teil des Keratins löste, das im allgemeinen gegen Wirkung chemischer Reagentien widerstandsfähig ist. Dann wurde die Wolle noch der Karbonisation unterzogen, dh. mit verdünnter Schwefelsäure getränkt (4% Beaumé) und darauf bei 60—80° getrocknet; die Eiweißstoffe wurden bei dieser Behandlung wohl sicher beseitigt. Das so von allen fremden Stoffen befreite Keratin wurde mit in Chloroform gelöstem Scharlach gefärbt, getrocknet und den Raupen verabreicht. Diese fraßen davon und nahmen bald eine rote Färbung an. Die älteren unter ihnen begannen sich jedoch bald zu verpuppen, die jüngeren wurden immer weniger beweglich und gingen zum Teil zu grunde, zum Teil verwandelten sie sich vorzeitig. Offenbar reicht das Keratin allein zu ihrer Ernährung nicht aus; es passiert den Darmkanal unverdaut.

Es muß hervorgehoben werden, daß die Färbung des Fettkörpers bei den Raupen immer auftritt, ob nun die gegebene Nahrung verdaut wurde, oder unverdaut den Darmkanal passierte.

Bei diesem Versuche ließ sich die bekannte Abhängigkeit der Größe der einzelnen Individuen von der Qualität der Nahrung erkennen. Die mit reinem Keratin gefütterten, überlebenden, kleinen Raupen verwandelten sich bald und ergaben auch kleine Imagines. Dagegen erreichten die Raupen, wenn ihrem Nährstoffe viel Pflanzen- oder Tierfett beigemengt wurde, eine ansehnliche Größe, so daß sie sogar dreimal größer wurden als die mit schlechtem Nährstoff gefütterten Individuen, was ein Licht auf die bedeutenden Schwankungsgrenzen in der Größe der Tineiden wirft. Zwar ernähren sich die Tineidenraupen, mit welchen ich experimentierte, in der Natur von Substanzen wie Haare, Federn, Horngewebe der Vögel (Schnabel, Krallen), Haut der Tier- und Menschenleichen (*Tineola biselliella*) also überhaupt von keratinisierten Substanzen, doch scheint das reine Keratin der von ihnen am wenigsten bevorzugte Nahrungsstoff zu sein. Schon in meiner Arbeit über *Ti-*

neola biselliella (im ersten Teile) habe ich darauf hingewiesen, daß die Raupe dieser Art die Reste von Fetten und Eiweißstoffen, welche sich in der Nahrung befinden, aufsucht, und daß diese einen sehr wesentlichen Bestandteil der Nahrung der Raupen bilden, während das Keratin gewissermaßen nur eine Art Füllstoff darstellt. Die Keratinanalyse von Unna (13) beweist die Existenz verschiedener Keratinarten. Unna hat festgestellt, daß beim Prozesse der Verhornung der Eiweißstoff sich niemals gänzlich in Keratin verwandelt, und daß sogar die ältesten Hornsubstanzen wie z. B. Hörner und Hufe nur zum Teil aus Keratin bestehen und in großer Menge unverhornten Eiweißstoff enthalten. Es ist also anzunehmen, daß eben diese löslichen, in dem Keratin befindlichen Eiweißstoffe, von welchen sich die Tineidenraupen nähren, einen der wesentlichsten Bestandteile ihrer Nahrung bilden. Daß die Tineidenraupen das Eiweiß in der Tat gerne aufnehmen und verdauen, davon überzeugte ich mich bei *T. biselliella* und *pellionella* durch Verfütterung von Hühnereiweiß, welches auf Glasplatten ausgegossen und getrocknet worden war. Diese Nahrung genügte ihnen vollständig. Junge Kulturen erreichten die normale Größe und machten dann die Verwandlung durch. Auch bei anderen Tineidenraupen ließ sich der Einfluß der Nahrungsqualität auf die Größe feststellen. Raupen von *Tinea corticella*, welche Gänge im Gewebe der Hutpilze bauen, erreichen, auf Holzgewebe übertragen, ihre normale Größe nicht; dasselbe gilt für die Art *Ephestia elutella*, welche gewöhnlich auf modrigem Holz lebt und die, auf einen besseren Nährstoff, dh. auf gedörrte Pflaumen übertragen, sich günstiger entwickelt.

Biologisch interessant ist es, daß sich ein gewisser Zusammenhang zwischen der künstlichen Veränderung der Farbe des Raupenkörpers und der Häutung beobachten läßt, welche anormal vor sich geht. Diejenigen Raupen nämlich, welche zuerst mit einem Farbstoff gefüttert und dann auf einen anderen übertragen wurden, häuteten sich gleich darauf. Nachdem die mit Brillantblau gefärbten Raupen von *E. lacteella* auf Sudan IV übertragen worden waren, warfen sie ihre Haut ab, sobald sich die Körperfarbe verändert hatte. Schon im Verlaufe von 24 Stunden rollte sich manchmal die trockene Haut der ersten Brustsegmente über den letzten Abdominalsegmenten und hemmte die Bewegungen der Raupen. Sie wurden auch schwach, konnten sich nicht normal entwickeln und gin-

gen bald ein, wenn es ihnen nicht gelang, sich von der zusammengerollten Haut zu befreien. Da ich keine weiteren Versuche in dieser Richtung angestellt habe, vermag ich auch keine Erklärung für diese eigentümliche Erscheinung zu geben.

Die Permanenz der Färbung.

Die Farbe des Körpers bleibt immer gleichmäßig intensiv, wenn die Raupen längere Zeit hindurch mit dem farbigen Nährstoff gefüttert werden. Auch behalten sie die Farbe noch lange bei, selbst wenn sie ungefärbte Nahrung erhalten. So beobachtete ich, daß halberwachsene Raupen *(Tineola biselliella)*, welche mit Sudan gefärbt und dann auf gewöhnlichen ungefärbten Nährstoff übertragen worden waren, sich erst nach 21 Tagen nachweislich entfärbten. Das Fett entfärbt sich deutlicher erst nach einem Monate; die Entfärbung macht sich zuerst am vorderen Teile des Raupenkörpers bemerkbar und dann erst an den weiteren Segmenten des Hinterleibes. Der Grund für diese langsame Entfärbung den Raupen darf nicht als ein langsamer Stoffwechsel bei diesen Arten gedeutet werden, da der Fettkörper der Insekten als Reservestoff wohl einen anderen Stoffwechsel besitzt, als z. B. die Muskeln oder Nerven.

Stark gefärbte Raupen verlieren während der ganzen Metamorphose ihre durch künstliche Färbung erworbene Farbe nicht, sondern erscheinen in farbigen Hüllen, wie wir das in Figur 6 dargestellt sehen; die hier abgebildete Puppe von *T. biselliella* ist aus einer mit dem Farbstoffe Sudan III gefütterten Raupe hervorgegangen, und ihr ganzer Hinterleib erscheint deutlich gefärbt. Der Schmetterling zeigt auch eine deutliche Färbung. Diese tritt besonders intensiv am Kopfe, an den Extremitäten, überhaupt dort, wo das Fettgewebe durch das Chitin hindurchscheint, zum Vorschein. Die Flügel fand ich, was die Farbe anbelangt, bei allen untersuchten Arten ungefärbt, dh. in normaler Färbung. Im Innern des Körpers häuft sich der Farbstoff außer im Fettkörper am meisten in den Geschlechtsorganen an, wie ich es schon in meiner früheren Arbeit bei der mit Sudan III gefütterten *T. biselliella* beschrieben habe; auch andere Farbstoffe, mit denen ich experimentierte, finden sich an den gleichen Stellen. Der Darmkanal und sein Inhalt sind auch im Imagostadium gefärbt und die Schmetterlinge stoßen gleich nach dem Ausschlüpfen aus der Puppe gefärbte Ex-

kremente in flüssiger Form aus, welche gerinnen und je nach dem dargereichten Farbstoff verschiedenfarbige Flecke bilden. Die gefärbten Schmetterlinge mit blauem, rotem, violettem Hinterleib kopulieren miteinander und legen farbige Eier ab, wie ich das bei den mit Sudan gefütterten Raupen beschrieben habe. Die Verschiedenheit in der Färbung der kopulierenden Schmetterlinge hat nämlich keinen Einfluß auf die Farbe der Eier, und diese weisen immer die Farbe des gefärbten Weibchens auf, weil die Spermatozoiden zu klein sind, um die Farbe der Eier bei der Befruchtung zu beeinflussen. Aus farbigen Eiern schlüpfen farbige, kleine Raupen aus, wie das in Figur 7 dargestellt ist. Bei jungen, eben ausgekrochenen Raupen erstreckt sich die Färbung über den ganzen Körper, ist aber nicht überall gleich intensiv. Der mittlere Teil des Körpers, dort wo sich der Mitteldarm befindet, ist stets am stärksten gefärbt. Am intensivsten treten bei Eiern und den aus Eiern ausgekrochenen Raupen die roten Farbstoffe, Scharlach und Sudan, schwächer die gelben und am schwächsten die blauen und die grünen Farbstoffe zum Vorschein. Selbstverständlich ist die Intensität von dem Grade der Färbung abhängig, in welchem die Raupe die Metamorphose durchgemacht hat.

Wie mit Sudan, so waren auch mit anderen Farbstoffen alle Entwickelungsstadien vom Raupenstadium bis zu dem von der Imago gelegten Ei gefärbt. Der Farbstoff erhielt sich im Fett der Eierstöcke und des Fettkörpers, welcher sich im Körper der Raupen reichlich findet und welcher, wie bekannt, als Vorratsmaterial für die Puppe und die keine Nahrung aufnehmende Imago dient. Der Farbstoff ist also als eine materielle Beimischung auf die ganze Generation auf dem Wege der Geschlechtszellen übertragbar, wie ich es schon in meiner früheren Arbeit (10) nachgewiesen habe, worin auch die Analogie zwischen dieser Erscheinung und der Übertragung des Leuchtstoffes bei Leuchtkäfern (*Lampyris* und *Pyrophorus*) hervorgehoben wurde.

Die Färbung des Fettkörpers mit Sudan III im Organismus der Säugetiere und Vögel beobachtete zuerst Daddi im J. 1896. In letzter Zeit haben amerikanische Gelehrte viele Untersuchungen in dieser Richtung angestellt. So wurde von Riddle (18) die Färbung des Dotters und der Embryonen in den Eiern, welche die mit Sudan III gefütterten Hühner gelegt hatten, nachgewiesen; dabei war auch das Fettgewebe der letzteren entsprechend gefärbt. Die Fär-

bung bei den Embryonen war im Unterhautfettgewebe zwischen dem Bein und Bauch sichtbar; auch waren die Federn in den ersten Entwickelungsstadien gefärbt, wie dieser Forscher in seiner letzten Arbeit (1910) über Metabolismus und Erblichkeit von Sudan III angibt. Ähnliches konstatierte Riddle bei Schildkröten, die mit Sudan gefüttert wurden, und deren Unterhautfettgewebe, *mucosa intestinalis* und die Follikularmembranen entsprechend gefärbt waren. Derselbe Forscher beobachtete auch die Färbung der Darmwände, der serösen Membranen *(peritoneum)*, des Nierenfettes und des *Corpus luteum* bei den Kaninchen (denen auch verdünntes Sudan eingespritzt wurde). Riddle gibt auch in seiner Arbeit eine sehr interessante Analogie zwischen der Art der Überführung des gefärbten Fettes bei diesen Tieren an und der Überführung des Fettes, welches von den Muskeln der Lachse zu den Eierstöcken auf dem Wege des Blutgefäßsystems gelangt. Nach der Meinung dieses Autors gelangen die Lipochromen des Muskelfettes in das Gefäßsystem und vom Blut und von der Lymphe in die Eier.

Auch S. H. Gage und S. Phelps Gage (14. 15) riefen durch die Fütterung mit Sudan III eine Rotfärbung des Fettgewebes der weißen Ratten hervor. Die Jungen der gefärbten trächtigen Weibchen, deren Milch rot war, nährten sich von der Milch der Mutter und wurden selbst rot. Es wurde auch nachgewiesen, daß Sudan III auf dem Wege des Hühnerdotters und der Milch der Ratten, aber nicht auf dem Wege der Placenta auf die Nachkommen übertragbar ist. Ob auch die Farbstoffe, mit denen ich experimentierte, bei höheren Tieren positive Resultate ergeben würden, wäre noch zu untersuchen. Meine Experimente beweisen, daß die Fettfarbstoffe die Insekten vital färben können und sich mechanisch auf die Nachkommen übertragen.

Der Mechanismus der Aufnahme der Farbstoffe durch die Fettzellen des Fettgewebes der Raupen ist hauptsächlich von der chemischen Natur des Farbstoffes abhängig; die indifferenten und die basischen Farbstoffe eignen sich zur vitalen Färbung der Raupen am besten. Saure Fettfarbstoffe dagegen werden nicht resorbiert. Michaelis (9) behauptet, daß die Färbung des Fettes mit indifferenten Farbstoffen ein klassisches Beispiel einer auf rein physikalischen Prozessen beruhenden Färbung ist und daß bei dieser Art der Färbung sich kein chemischer Prozeß zwischen dem Farbstoffe und dem Fette abspielt. Nach Michaelis sind die neutralen Farbstoffe

eher gefärbte Stoffe als eigentliche Farbstoffe im engen Sinne des Wortes. Von den gut färbenden basischen Fettfarbstoffen, mit denen ich experimentierte, bildet das Indophenol die einzige Ausnahme.

Ein dem Organismus schädlicher Einfluß dieser Farbstoffe war nicht zu beobachten. Nur das Azobenzol allein wirkte in starker Konzentration giftig. Doch machten manche stärkere Individuen, obwohl sie mit Azobenzol gefüttert worden waren, die Metamorphose durch. Es folgt also daraus, daß die Aufnahme von Farbstoffen durch das Fettgewebe der Raupen vor allem davon abhängig ist, ob die Farbstoffe sauer, basisch oder indifferent sind.

Ich fühle mich Herrn Prof. Hoyer, unter dessen Leitung ich im Vergleichend-anatomischen Institute der Jagellonischen Universität diese Arbeit ausgeführt habe, zu großem Dank verpflichtet, wie auch Herrn Prof. Marchlewski in Krakau und Herrn Direktor Strasburger in Moskau, von welchen ich die nötigen Farbstoffe erhalten habe.

Literatur.

1) P. Ehrlich: Das Sauerstoff-Bedürfnis des Organismus, 1885.
2) F. W. Kruckenberg: Vergleichend-physiologische Vorträge, 1886.
3) W. S. Schmujdsinowitsch: Über den Einfluß verschiedener färbender Substanzen, welche die Seidenraupen mit der Nahrung aufnehmen, auf die Farbe der Seide. Arb. d. Kaukas. Seidenzuchtst. 1889, Bd. 2, Tiflis, 1891 (Zit. nach Bachmetjew).
4) L. Villon: La soie au point de vue scientifique et industriel. Bibl. des connaissances utiles, 1890 (Zit. nach Bachmetjew).
5) E. B. Poulton: The colours of animals. Intern. scientif., Sér. 68 (1890).
6) R. Dubois: Sur les propriétés des principes colorants naturels de la soie jaune et sur leur analogie avec celles de la carotine végétale. Compt. rendus, 1890.
7) S. N. Kamensky: Zur Frage über das Aneignen vom Organismus der Seidenraupe färbender Stoffe, welche mit Nahrung eingeführt werden. Arbeiten d. Kaukas. Seidenzuchtst., 1892, Bd. 6, Tiflis, 1893 (Zit. nach Bachmetjew).
8) M. Standfuss: Handbuch der paläarktischen Großschmetterlinge, 1896.
9) Michaelis: Einführung zur Farbstoffchemie, 1902.
10) L. Sitowski: Biologische Beobachtungen über Motten. Bull. de l'Acad. Cracovie, 1905.

11) P. Bachmetjew: Experimentelle entomologische Studien, Bd. 2, Sophia 1907.
12) Metalnikoff: Recherches experimentals sur les Chenilles de Galeria mellonella. Arch. de Zool. exp. et gén., IV F., 8. Bd. 1908.
13) Unna: Über die Zusammensetzung und die Bedeutung der Hornsubstanzen. Mediz. Klinik, 1908, Nr. 33.
14) S. H. Gage, S. Phelps Gage: Sudan III deposited in the egg and transmitted to the chicken. Science, N. F., Bd. 28, 1908.
15) S. H. Gage, S. Phelps Gage: Coloration of the milk in lactating animals and staining of the growing adipose tissue in the suckling young. Anatom. Record, Bd. 3, Nr. 4, 1909.
16) L. Sitowski: On the inheritance of aniline dye. Science, N. F. Bd. 30 1909, 3. Sept., S. 308.
17) Spuler: Die Schmetterlinge Europas, Bd. 2, 1910.
18) O. Riddle: Studies with Sudan III in metabolism and inheritance. The Journ. of. exper. Zool., Bd. 8, Nr. 2, 1910.
19) Handb. d. vergl. Physiologie, hrsg. v. H. Winterstein, Bd. 2, Hälfte 1, Bogen 52—61, 1910. Die Aufnahme, Verarbeitung und Assimilation der Nahrung von W. Biedermann.

Erklärung der Tafel XXXIII.

Fig. 1. Raupe von *Tineola biselliella* Hummel, gefüttert mit Azobenzolceracin.

Fig. 2. Raupe von *Tineola biselliella* Hummel, gefüttert mit Scharlach.

Fig. 3. Raupe von *Endrosis lacteella* F., mit Brillantblau gefüttert.

Fig. 4. Raupe von *Endrosis lacteella* F., mit Violettfettfarbe gefüttert.

Fig. 5. Raupe von *Endrosis lacteella* F., mit Brillantgrün gefüttert.

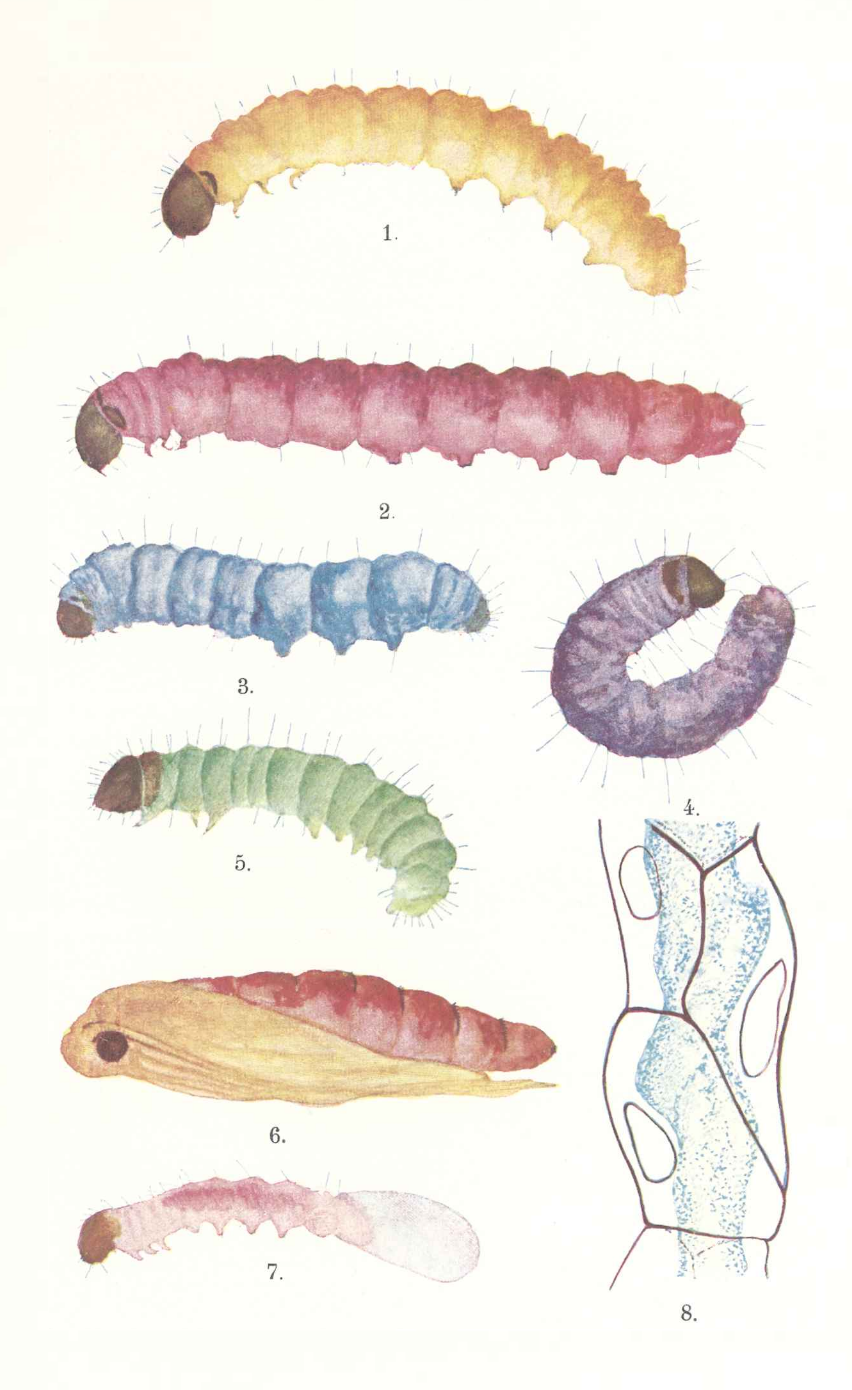
Fig. 6. Puppe von *Tineola biselliella*, deren Raupe mit Sudan III gefüttert war.

Fig. 7. Raupe von *Tineola biselliella* im Momente des Auskriechens aus dem farbigen Ei, welches eine Motte gelegt hatte, deren Raupe mit Scharlach gefüttert worden war. Die letzten Segmente des Körpers befinden sich noch in der Eihülle.

Fig. 8. Ein Teil des Malpighischen Gefäßes mit ausgeschiedenen Körnchen von Tiefblau-B extra.







L. Sitowski.

BULLETIN INTERNATIONAL
DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES DE CRACOVIE
CLASSE DES SCIENCES MATHÉMATIQUES ET NATURELLES.
SÉRIE *B*: SCIENCES NATURELLES.

DERNIERS MÉMOIRES PARUS.

(Les titres des Mémoires sont donnés en abrégé).

Avis.

Les livraisons du «Bulletin International» se vendent séparément. — Adresser les demandes à la Librairie «Spółka Wydawnicza Polska», Rynek Gł., Cracovie (Autriche).